

FACTORES DE RIESGO GENÉTICOS EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER ESPORÁDICO

Paula García Gamarro

Universidad de Sevilla

Facultad de Farmacia





Facultad de Farmacia

Trabajo de fin de grado

Grado en Farmacia

Factores de riesgo genéticos en la enfermedad de Alzheimer esporádico

Paula García Gamarro

Departamento de Bioquímica y Biología molecular

Trabajo bibliográfico

Tutora: María Luisa Vizuite Chacón

Co-tutora: Victoria Navarro Garrido

Sevilla, junio de 2019

Resumen

La enfermedad de Alzheimer (EA) se ha convertido en una gran preocupación para la población mundial, ya que produce una pérdida total de la independencia de los enfermos, destruyendo la calidad de vida de las personas que la sufren y de su entorno. Esta patología cursa con neurodegeneración, principalmente en la corteza cerebral e hipocampo. El cerebro de los enfermos modifica su morfología, reduce su masa y ensancha sus surcos y ventrículos. Además, presenta estructuras neurotóxicas formadas por el péptido A β y la proteína Tau fosforilada. Existen dos tipos de enfermedad de Alzheimer, la forma familiar y la esporádica. En la enfermedad de Alzheimer esporádica, la forma mayoritaria de esta patología, el factor de riesgo más importante es la edad. Pero además existen múltiples factores de riesgo genéticos que aumentan la probabilidad de desarrollar la patología. Esta revisión bibliográfica se centra en estudiar la influencia de ciertos polimorfismos en los genes *APOE*, *CLU*, *TREM2* y *PICALM* en la forma esporádica de la enfermedad. Las variaciones en estos genes alteran las funciones de las proteínas que codifican, contribuyendo, entre otros mecanismos patológicos, a fallos en la eliminación de las estructuras neurotóxicas, a la neuroinflamación crónica y a la muerte neuronal.

Palabras clave: Enfermedad de Alzheimer esporádica, APOE, Clusterina, TREM2, PICALM

Índice

- 1. Resumen**
- 2. Introducción**
 - 2.1** Enfermedad de Alzheimer
 - 2.2** Epidemiología y diagnóstico
 - 2.3** Cuadro clínico y fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer
 - 2.3.1** Hipótesis de la cascada amiloide
 - 2.3.2** Hipótesis de TAU y los ovillos neurofibrilares
 - 2.3.3** Neuroinflamación
- 3. Objetivos**
- 4. Metodología**
- 5. Resultados y discusión**
 - 5.1** *APO-E*
 - 5.1.1** Vías de eliminación de A β
 - 5.1.2** *APOE4* e inflamación
 - 5.2** *CLU*
 - 5.3** *TREM2*
 - 5.3.1** Mutaciones de *TREM2*
 - 5.3.2** ApoE actúa como ligando de TREM2 induciendo la fagocitosis en la microglía: regulación de la neuroinflamación
 - 5.3.3** TREM2 y A β
 - 5.4** *PICALM*
- 6. Conclusiones**
- 7. Bibliografía**

2. Introducción

2.1 Enfermedad de Alzheimer

A lo largo del pasado siglo, las mejoras en el sistema sanitario y los avances en la ciencia y la medicina han llevado a un incremento en la calidad y los años de vida en la población. No obstante, por ello, la incidencia de algunas enfermedades se ha visto acrecentada. Un ejemplo de ellas es la demencia.

Los primeros casos de demencia datan de hace más de 2.500 años. Hasta principios del siglo pasado, se pensaba que el factor que la causaba era el endurecimiento de las arterias. Pero en 1901, Alois Alzheimer, psiquiatra, químico y neurólogo alemán, describió la enfermedad a la que puso su nombre basándose en una paciente de unos 50 años llamada Auguste D., que presentaba síntomas como amnesia, desorientación y cambios de humor. Al principio la diagnosticó con una demencia presenil atípica, ya que a pesar de que los síntomas de deterioro cognitivo coincidían con su teoría, la exploración póstuma de su corteza cerebral señaló la presencia de placas proteicas no fisiológicas en el espacio extracelular y las paredes de los vasos sanguíneos, y marañas proteicas intraneuronales, lo que no coincidía con lo que entonces se creía la etiología. Posteriormente estos cuerpos extraños se identificaron como placas β -amiloides y ovillos neurofibrilares que, a día de hoy, son las principales marcas patológicas de la enfermedad de Alzheimer (Van Eldik et al., 2016), (López-Álvarez and Agüera-Ortiz, 2015).

La enfermedad de Alzheimer es la forma más frecuente de demencia y se clasifica en dos tipos: la forma familiar y la esporádica (Rigby et al., 2018).

La forma familiar de la enfermedad representa el 0,5-1% de los casos de Alzheimer, y se desarrolla de forma temprana, a partir de los 45 años. Se produce por mutaciones que se heredan con carácter autosómico dominante en genes que codifican la proteína precursora de amiloide (APP), la presenilina 1 (PSEN1) y la presenilina 2 (PSEN2). Estas tres proteínas se ven implicadas en la formación de la proteína β -amiloide ($A\beta$), siendo la primera la precursora y las otras dos, parte del complejo de la γ -secretasa. El proceso de formación de $A\beta$ se definirá más adelante.

El segundo tipo de enfermedad de Alzheimer, el esporádico, lo presentan más del 99% de los pacientes. La aparición de la patología es tardía, a partir de los 65 años con una incidencia máxima entre los 80 y 90 años. El factor de riesgo más importante, sin duda, es la edad, pero se han reconocido mutaciones en diferentes genes que influyen en su prevalencia. Estos son, entre otros, *APOE*, *TREM2*, *CLU* y *PICALM*, que se desarrollarán más adelante (Masters et al., 2015).

Es importante aclarar que, el hecho de que los polimorfismos de riesgo para estos genes se encuentren en el genoma de un individuo no asegura el desarrollo de la enfermedad, si no un aumento en el riesgo de padecerla.

2.2. Epidemiología y diagnóstico

En el informe mundial sobre el Alzheimer (2018), la población que sufre demencia se estimó en unos 50 millones de personas, siendo ésta la séptima causa de muerte en el mundo. Se cree que en el año 2030 la incidencia incrementará hasta afectar a 75 millones de personas en el planeta (ADI, 2018), (WHO, 2018).

De la población enferma de demencia, dos tercios sufren de Alzheimer, representando esta cifra un 10% de las personas mayores de 65 años. En Europa, la prevalencia es del 5,05%, afectando más al sexo femenino: un 7.13% frente a 3.31% en hombres (ADI, 2018), (Sandra Johanna et al., 2018), (Niu et al., 2017).

Actualmente no existe cura para esta enfermedad, ni terapias para parar o revertir el daño cerebral que causa, y los fármacos usados para su tratamiento sólo proporcionan pequeños beneficios frente a los síntomas iniciales. Estos son los inhibidores de la Acetilcolinesterasa (Donepezilo, Galantamina, Rivastigmina) y antagonistas parciales del receptor N-metil-D-aspartico (NMDA) de glutamato como la Memantina, junto con los psicofármacos para aliviar los síntomas neuropsiquiátricos.

Tampoco existe aún la posibilidad de un diagnóstico temprano porque no se conocen biomarcadores validados para ello. Sin embargo, existen tests para el diagnóstico por imagen, como la resonancia magnética (RMN), que revela la atrofia cerebral, o la tomografía por emisión de positrones (PET), que evidencia las placas, los ovillos y la inflamación cerebral. También se pueden realizar tests bioquímicos en el líquido cefalorraquídeo (LCR) para las proteínas A β y Tau. Aún así, el reto actual de los investigadores es descubrir una forma de diagnóstico menos invasiva y que permita detectar la enfermedad en una etapa temprana, como por ejemplo, con marcadores en plasma (Heppner et al., 2015).

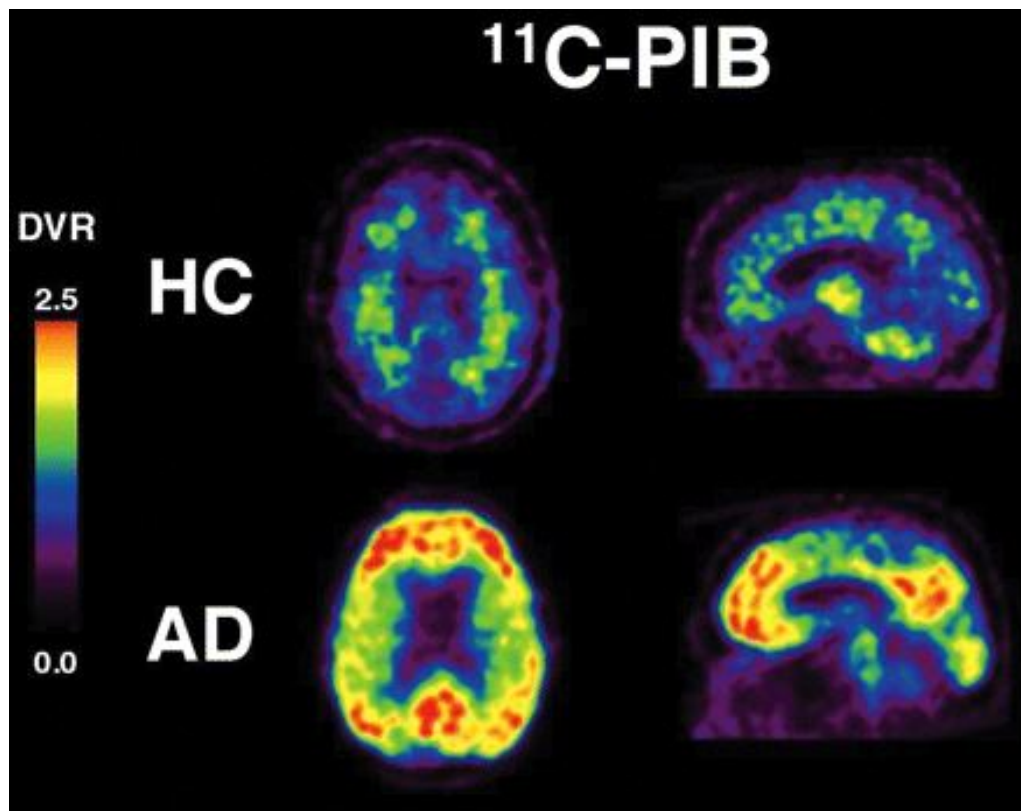


Imagen 1. Ratio de volumen de distribución (DVR) del ligando de A β , ^{11}C -PIB, en imágenes por PET. Comparación del cerebro de un individuo sano (HC; healthy control) con un individuo con enfermedad de Alzheimer (AD; Alzheimer's disease). Imagen de *Masters and Beyreuther, 2006*.

2.3 Cuadro clínico y fisiopatología

Los síntomas más relevantes de esta enfermedad son la pérdida progresiva de las funciones cognitivas, la memoria, la orientación espacial y temporal, y las alteraciones de la atención y de la personalidad (Ea, 2007). Para ayudar al diagnóstico, la Asociación del Alzheimer reconoce diez signos como señales de advertencia para la enfermedad, que son:

1. Déficit de memoria que dificulta la vida cotidiana.
2. Dificultad para planificar o resolver problemas.
3. Dificultad para realizar tareas habituales en casa, el trabajo o el tiempo libre.
4. Desorientación en el tiempo o el espacio.
5. Dificultad para comprender imágenes y cómo los objetos se relacionan con el ambiente.
6. Nuevos problemas con el uso de palabras en el habla o la escritura.
7. Colocar objetos fuera de su sitio y falta de habilidad para desandar sus pasos.
8. Falta de cordura.
9. Pérdida de iniciativa para tomar parte en el trabajo o en actividades sociales.
10. Cambios en el humor o la personalidad. (Alzheimer's Association, 2019).

Aunque la duración media de la enfermedad se estima en ocho o diez años, estos síntomas pueden aparecer hasta 20 años después de que se empiece a desarrollar la enfermedad. Esto dificulta la posibilidad de un diagnóstico temprano, pues al principio el deterioro neurológico en el paciente es inapreciable. Solo cuando el daño neuronal en las regiones que controlan las funciones cognitivas, como el pensamiento, la capacidad de aprendizaje o la memoria, es avanzado e irreparable, el enfermo empieza a presentar los síntomas de esta patología (Sperling et al., 2011), (Masters et al., 2015), (Alzheimer's Association, 2019).

El declive de los procesos cognitivos es progresivo, y la sensación de dependencia total lleva a la apatía y a los cambios de humor, entre otras consecuencias psicológicas, como pueden ser la disforia, el aislamiento social, la ansiedad e irritabilidad, el desorden del sueño o la actitud suspicaz. Por ello esta enfermedad se considera una

afectación tanto cognitiva como social (2015 Alzheimer's disease facts and figures, 2015), (Montgomery et al., 2018), (Sandra Johanna et al., 2018).

Para el correcto diagnóstico se requiere excluir otras posibles causas de deterioro cognitivo, como delirios o depresión y el deterioro que cursa con normalidad en edades avanzadas. Hasta ahora, la única forma de confirmar la enfermedad de Alzheimer en un individuo es la autopsia, detectando en el cerebro las placas seniles y los ovillos neurofibrilares (Prince et al., 2016), (Khan and Bloom, 2016).

En cuanto a las alteraciones en el tejido cerebral, en la evaluación clínica se distinguen tres etapas. La hipocámpica está asociada con la pérdida de memoria. La segunda se identifica por la apraxia y problemas en el habla, que sucede por daños en el lóbulo parietal, temporal y occipital, áreas corticales de asociación, y la etapa global se caracteriza por afectar al sistema extrapiramidal, área que controla el movimiento (Orta-Salazar et al., 2019).



Imagen 2: En la primera imagen, observamos una representación de un cerebro sano. En la segunda, el cerebro de un individuo con la enfermedad de Alzheimer. La tercera imagen es una comparativa de ambos órganos, resaltando la pérdida de tejido del cerebro enfermo. Imagen modificada de *Alzheimer's Association, 2019*.

Dentro de las características microscópicas, se reconocen como marcas patológicas de enfermedad de Alzheimer las placas seniles y los ovillos neurofibrilares.

A parte de estos dos componentes de la patología, que se describirán a continuación, la respuesta inflamatoria juega también un rol muy importante. Se ha demostrado que

durante la enfermedad se producen cambios en la morfología, activación y distribución de la microglía y los astrocitos, proceso conocido como microgliosis y astrogliosis. Además, los mediadores inflamatorios se expresan en altas concentraciones. Aún no se conoce del todo cómo influyen estos cambios, si son beneficiosos o por el contrario favorecen a la enfermedad. Se cree, por un lado, que la activación de la microglía y los astrocitos podrían contribuir a la eliminación de A β . Sin embargo, existe la teoría de que la neuroinflamación contribuye a la hiperfosforilación de Tau y que la secreción de factores pro-inflamatorios induce la neurodegeneración, ya que la expresión de TNF α o IL1 β , resultado de la activación de éstas células, resulta tóxica para las neuronas (Gratuze et al., 2018).

2.3.1. Hipótesis de la cascada β -amiloide

La proteína beta-amiloide (A β) es un péptido producido a partir de la proteína precursora amiloidea (APP), una proteína transmembrana que sufre una proteólisis por dos vías, no amiloidogénica y amiloidogénica. La vía no amiloidogénica ocurre de manera que APP es cortada por la α -secretasa en la región de A β , entre los aminoácidos 16 (Lisina) y 17 (Leucina), y el ectodominio de APP se libera de la superficie celular y los fragmentos de APP soluble se liberan en vesículas desde la superficie de la célula. En la vía amiloidogénica interviene primero la β -secretasa, que realiza un corte en la zona extracelular originando el fragmento C-terminal (C99), que queda en la membrana. Este fragmento sufre la segunda escisión, esta vez realizada por la γ -secretasa en el dominio transmembrana, liberando así lo que se conoce como A β (Takatori et al., 2019), (Kojro and Fahrenholz, 2006).

La γ -secretasa es un complejo proteico que se compone de cuatro subunidades proteicas llamadas presenilina (PSEN), nicastrina (NCSTN), presenilin enhancer 2 (PEN-2) y anterior pharynx-1 defective 1 (APH-1). Dentro de las presenilinas se distinguen la presenilina 1 (PSEN1) y la presenilina 2 (PSEN2). Existen distintas variantes de la γ -secretasa, con diferentes sitios de corte para C99, por lo que de la degradación resultan péptidos de A β de entre 37 y 43 aminoácidos, según qué variante sea responsable de la escisión. Los más abundantes son los de 40 (A β 40) y 42 (A β 42)

aminoácidos, que se dan en proporción 10:1. Ambos péptidos pueden agregarse formando lo que se conoce como placas seniles. Sin embargo, A β 42 presenta más tendencia a la agregación, por lo que se encuentra en mayor concentración que A β 40 en las placas (Takatori et al., 2019).

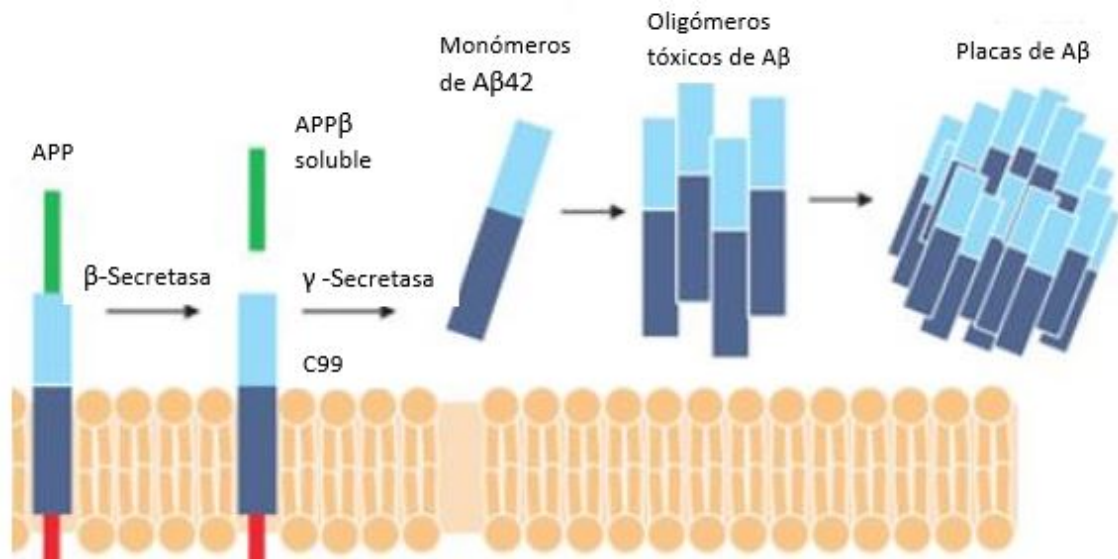


Imagen 3: Esquema de formación de las placas β -amiloides desde APP por la vía amiloidogénica. Imagen modificada de *Bachurin et. al, 2017*.

Las alteraciones genéticas en APP, PSEN1 y PSEN2 producen cambios en la actividad de la γ -secretasa, lo que conduce a la sobreproducción de A β 42 y a la acumulación de A β , aumentando su producción o facilitando su agregación (Takatori et al., 2019).

A pesar de que no se conoce una clara etiología para esta enfermedad, se postula que es la acumulación en altos niveles de la proteína A β lo que marca el inicio patológico de la enfermedad de Alzheimer. La incapacidad del organismo de retirar estas placas neurotóxicas del cerebro es lo que causaría, entre otros factores, la muerte celular (Fernández and Cruchaga, 2016), (Masters et al., 2015).

Algunos estudios postulan que las placas no son neurotóxicas en sí mismas, si no que sirven de reservorio para oligómeros sinaptotóxicos de A β (oA β) que difunden de ellas. Estos oligómeros de A β soluble serían capaces de unirse a la membrana neuronal e inducir disfunción sináptica, contribuyendo a la neurodegeneración y al deterioro de

las funciones cognitivas por una pérdida masiva de la sinapsis (Mucke and Selkoe, 2012).

El organismo, en condiciones fisiológicas, es capaz de eliminar A β del tejido cerebral por distintos mecanismos, como degradación enzimática por neprilisina, eliminación sistémica a través de la barrera hematoencefálica (BHE), o drenaje linfático desde el líquido cefalorraquídeo (LCR). Estos mecanismos se desarrollarán más adelante.

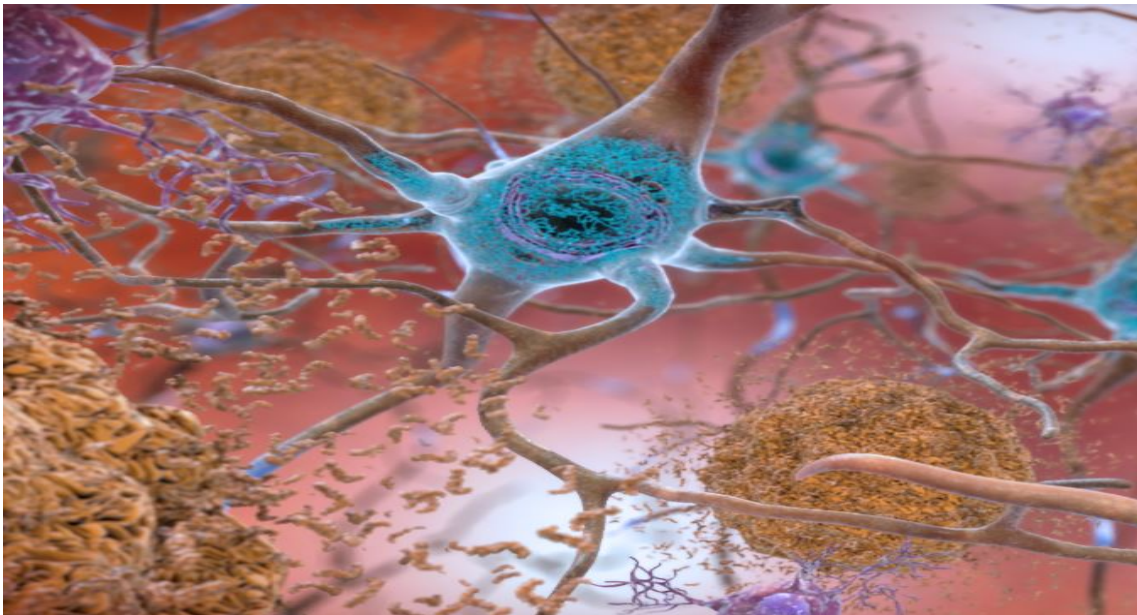


Imagen 4: Representación de neuronas en un cerebro con enfermedad de Alzheimer: se muestran ovillos neurofibrilares intraneuronales (azul) y placas seniles (naranja) en el espacio intersticial. Imagen del *National Institute on Aging (NIA; NIH)*.

2.3.2. Hipótesis de TAU y los ovillos neurofibrilares

En segundo lugar, los ovillos neurofibrilares son depósitos intracelulares de la proteína Tau hiperfosforilada. Tau está asociada a los microtúbulos en las neuronas y es codificada por el gen MAPT, localizado en el cromosoma 17. Esta proteína está implicada en diversos procesos neuronales como la comunicación celular y la plasticidad sináptica, es capaz de estabilizar los microtúbulos, mecanismo que permite la reorganización del citoesqueleto, y de regular el transporte axonal. También parece

ser esencial para la elongación y la maduración de los axones (Wang and Mandelkow, 2016).

Tau se localiza en el cerebro principalmente en las neuronas, y en menor proporción se da en los oligodendrocitos y astrocitos. En las neuronas se encuentra en el axón, estabilizando los microtúbulos (Guo et al., 2017).

Una de sus modificaciones postraduccionales es la fosforilación. Para ello cuenta con 85 sitios de fosforilación, incluyendo 45 residuos de serina, 35 de treonina y cinco de tirosina. Tau hiperfosforilada pierde su afinidad por los microtúbulos, desestabilizando así el citoesqueleto de las neuronas. Se agrupa, formando oligómeros y grandes agregados, que son los ovillos, y que originan fallos en la sinapsis, neurotoxicidad e inducción de apoptosis neuronal (Guo et al., 2017).

Según los estadios de Braak, los ovillos neurofibrilares empiezan a desarrollarse en la corteza entorrinal, muy importante en el proceso de memoria, en particular en la memoria espacial. Se extienden por el hipocampo, el sistema límbico, la amígdala, el tálamo, el claustró, neocórtex y por último, por las regiones motora y visual (Guo et al., 2017), (Khan and Bloom, 2016).

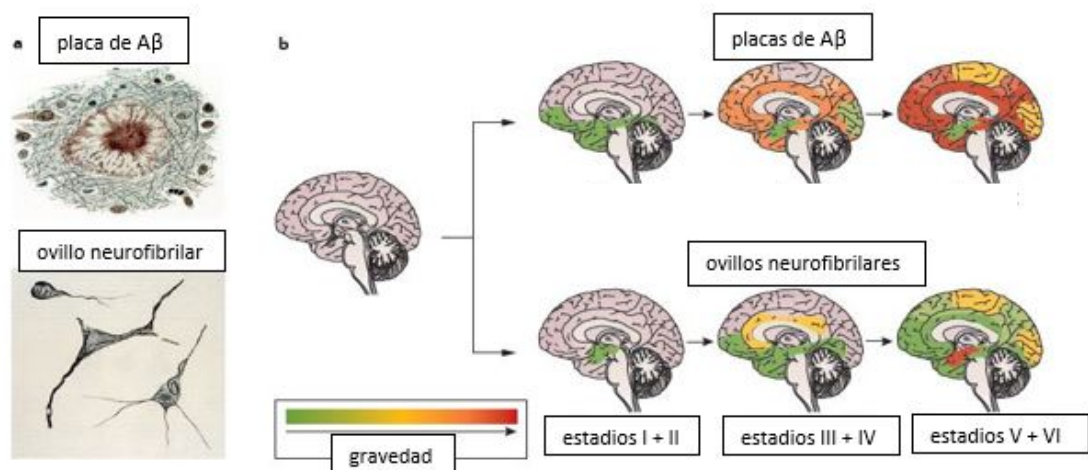


Imagen 5: Representación de las placas seniles y los ovillos neurofibrilares y su disposición en el cerebro según los estadios de Braak. Modificación de imagen de *Colin et. al, 2015*.

Aunque muchos estudios sobre esta enfermedad se enfocan en las placas de A β , los agregados de Tau juegan un rol tan importante como estas. Se ha demostrado que pacientes con cargas elevadas de A β en el cerebro que no presentan patología de Tau no tienen signos de disfunción cognitiva. Incluso la eliminación de Tau por modificación genética conlleva una neuroprotección frente a la apoptosis inducida por A β (Khan and Bloom, 2016).

2.3.3 Neuroinflamación

Existen claras evidencias de que la neuroinflamación con la que cursa esta enfermedad no es sólo una respuesta o un mecanismo pasivo frente al daño que causan las placas seniles o los ovillos neurofibrilares, si no que representa un factor causal, contribuyendo igualmente a la patogénesis del Alzheimer. El hecho de que algunos factores de riesgo genéticos sean genes que codifican proteínas relacionadas con la respuesta inmune, como en el caso de *TREM2*, apoya esta afirmación (Holmes, 2017).

Para entender el papel de la respuesta inflamatoria en la enfermedad de Alzheimer, es importante conocer los componentes y sus funciones. La microglía son las principales células fagocíticas del sistema nervioso central y están ampliamente distribuidas en el cerebro, donde están constantemente en búsqueda de patógenos y residuos celulares, analizando el entorno con sus terminaciones, que les conceden una gran motilidad. Estas células se activan una vez que encuentran signos de daño tisular o agregados de proteínas, dirigiéndose al foco de la lesión, donde inician la respuesta inflamatoria. Son capaces de detectar estas situaciones gracias a receptores de reconocimiento de patrones (PRR) que reconocen patrones moleculares asociados al daño (DAMPs) y asociados a patógenos (PAMPs) (Holmes, 2017).

Además, sirven de soporte para el sistema nervioso central, y protegen a las neuronas y mantienen su plasticidad realizando remodelación sináptica. Estas funciones se llevan a cabo gracias a la secreción de factores neurotróficos, como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) (Holmes, 2017).

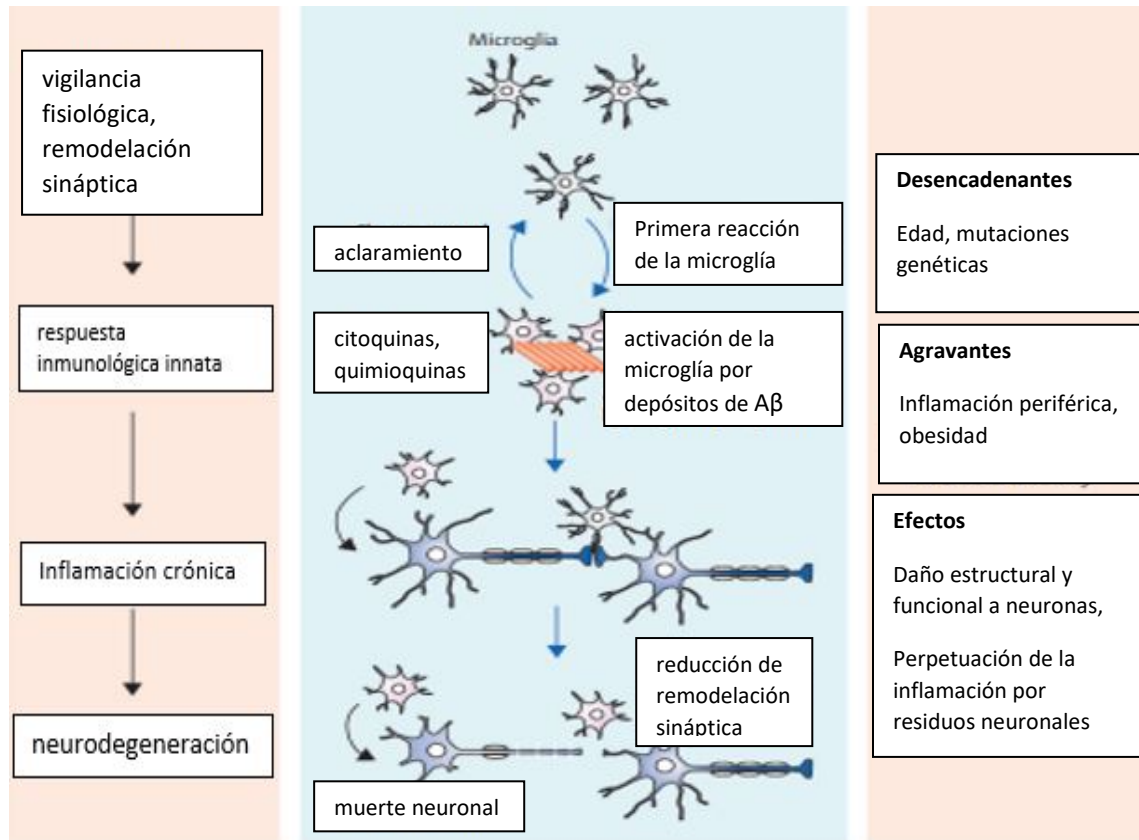


Imagen 6. Representación de la acción de la microglía frente a Aβ. Imagen modificada de Holmes et al, 2017.

En cuanto a la enfermedad de Alzheimer, la microglía es capaz de unirse a los monómeros y oligómeros de Aβ soluble gracias a receptores como SCARA1, CD36, y entre otros, los Toll-like receptors (TLRs), que forman parte de los PPR, reconociendo PAMPs. La unión de la proteína a estos receptores activa a la microglía, desencadenando la respuesta inflamatoria. Esta acción puede tener diferentes consecuencias dependiendo de la etapa de la patología y la zona donde se desarrolle. La inflamación se desencadena con la función de eliminar el cuerpo extraño o el daño tisular para resolver el problema rápidamente. Sin embargo en la enfermedad de Alzheimer este proceso inflamatorio se hace crónico, pudiendo llegar a ser deletéreo (Holmes, 2017).

En experimentos in vitro se ha revelado que, inducida por oligómeros de A β , la microglía contribuye al proceso de la inflamación crónica y la neurodegeneración, produciendo citoquinas proinflamatorias como IL-1 β (interleucina 1 β) o TNF α (factor de necrosis tumoral α), especies reactivas de oxígeno (EROS) y óxido nítrico (NO) (Zhou et al., 2018).

Se ha demostrado que la eliminación por modificación genética en experimentos in vitro de estos receptores reduce la producción de citoquinas iniciada por la unión de A β a los receptores, y previene la acumulación de A β intracelular (Holmes, 2017).

En el cerebro de los enfermos, alrededor de las placas seniles siempre se encuentran acumulaciones de microglía. Se cree que se agregan alrededor de ellas para ejercer de barrera entre las neuronas y A β , previniendo así la distrofia neuronal (Zhou et al., 2018).

Pero además de cambios en sus funciones, la enfermedad de Alzheimer induce cambios en la morfología de la microglía. Se ha descubierto en ratones un nuevo subtipo de microglía asociada a esta enfermedad, llamada DAM (disease-associated microglia) que podría representar una protección frente a la neurodegeneración. Estas células se encuentran sobre todo alrededor de las placas seniles, y la conversión de las células normales a este subtipo, que se produce en dos pasos, podría estar mediada por TREM2 en la segunda etapa, siendo la primera independiente de TREM2. Existe la hipótesis de que esta conversión se induce por la fagocitosis de neuronas apoptóticas por parte de la microglía, y que este mecanismo es mediado por la producción de ApoE inducida por TREM2 (Keren-Shaul et al., 2017).

Como se mencionó antes, a pesar de las investigaciones realizadas no se conoce aún con exactitud si la neuroinflamación representa un factor que contribuye a la patología o si por el contrario tiene un efecto protector ante ella. En experimentos con ratones *APP knock-in*, la activación crónica de la microglía reduce la concentración de A β . Sin embargo, esta activación conduce a una sobreproducción de factores proinflamatorios como neurotoxinas, citoquinas y quimioquinas que resultan tóxicas para las neuronas (Navarro et al., 2018).

3. Objetivos

- Definir los principios básicos de la enfermedad, principalmente las bases de la forma esporádica.
- Estudiar mediante una revisión bibliográfica todos los factores de riesgo genéticos que influyen en la enfermedad del Alzheimer esporádico.
- Relacionar los factores de riesgo genéticos con los distintos mecanismos que causan esta patología.

4. Metodología

Para la redacción de este trabajo bibliográfico se llevó a cabo una búsqueda por palabras clave en distintas bases de datos de artículos de investigación biomédica, principalmente en la base de datos MEDLINE a través del motor de búsqueda PubMed. También se utilizó el buscador de Google Scholar.

La mayoría de los artículos citados en este trabajo fueron publicados a partir del 2015, para procurar la máxima actualidad de la información resumida.

Además, se obtuvo información de páginas como la de la Organización mundial de la Salud (WHO), la Asociación del Alzheimer (Alzheimer's Association) y se utilizaron capítulos de distintos libros para completar la revisión.

5. Resultados y discusión

El Alzheimer esporádico se define como una enfermedad multifactorial que no tiene una clara etiología. Sin duda, el factor de riesgo más importante es la edad, pero la genética juega un papel muy importante en la posibilidad de desarrollar esta patología. También hay que tener en cuenta otros factores de riesgo modificables, como pueden ser la diabetes, enfermedades vasculares, bajo nivel educacional o de actividad física e intelectual o hipertensión, entre otros (Ritchie et al., 2017), (Garre-Olmo, 2018).

Los avances en las técnicas de secuenciación y los estudios de genoma completo (GWAs, siglas en inglés) han permitido identificar polimorfismos en el genoma de familias o pacientes y asociar dichas variantes genéticas con la incidencia de determinadas enfermedades (Guerreiro et al., 2012).

Estos estudios han revelado ser muy útiles en enfermedades complejas, como lo es la enfermedad de Alzheimer. Se llevan a cabo examinando polimorfismos de nucleótido único en todo el genoma y permiten hacer una evaluación de miles de variaciones genéticas a la vez, incluyendo regiones no codificantes (Shen and Jia, 2016).

El primer GWA para la enfermedad de Alzheimer se llevó a cabo en 2007, estudiando un total de 17.434 polimorfismos de nucleótido único de pacientes con esta enfermedad y pacientes control, ambos grupos de origen estadounidense y del Reino Unido. Aquel estudio afirmó que *APOE* era el único gen que suponía un riesgo relevante para el Alzheimer esporádico. Dos años más tarde, otro estudio de este tipo postuló que *CLU* también representaba un riesgo consistente (Shen and Jia, 2016).

Dentro de los genes con polimorfismos que se han descrito como de riesgo para la enfermedad de Alzheimer, a parte de los mencionados, encontramos *ABCA7*, *CR1*, *PICALM*, *BIN1* o *SORL1*, entre otros (Shen and Jia, 2016).

5.1 APOE

El gen *APOE*, situado en el cromosoma 19, es a día de hoy el mayor factor de riesgo genético conocido para el Alzheimer esporádico. Existen tres tipos de alelos para este gen ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$ y $\epsilon 4$), pero el riesgo lo supone la isoforma $\epsilon 4$ (*APOE4*) (Lane-Donovan and Herz, 2017).

Este gen codifica la proteína ApoE, una apolipoproteína predominante en el cerebro, producida mayormente por los astrocitos y en menos cantidad por la microglía. Regula el transporte de colesterol desde los astrocitos a las neuronas, asegurando así el buen funcionamiento de la sinapsis. Además, ApoE reconoce y se une a componentes inflamatorios lipofílicos con alta afinidad, como por ejemplo lipopolisacáridos, betaglucanos o $A\beta$, formando parte del proceso de eliminación de agentes patógenos y contribuyendo a la respuesta inmune innata (Mahley, 2016), (Zekonyte et al., 2016), (Huebbe and Rimbach, 2017).

Varios autores afirman que la dosis genética es directamente proporcional al riesgo de padecer la enfermedad: poseer una copia de *APOE4* triplica el riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer, mientras que los individuos con dos copias tienen un 90% de probabilidades de padecerla. Además, declaran que el poseer esta variante del gen adelanta la edad de aparición de la enfermedad hasta ocho años por alelo. La frecuencia con la que aparece *APOE4* en la población es del 15 – 20%, con algunas variaciones según la zona geográfica (Lane-Donovan and Herz, 2017), (Takatori et al., 2019).

5.1.1 Vías de eliminación de $A\beta$

Para entender el porqué del riesgo que supone poseer el gen *APOE4* para el desarrollo de esta enfermedad, hay que aclarar primero cómo se eliminan las placas de $A\beta$ y los oligómeros de $A\beta$ soluble que se concentran en el tejido cerebral. Los mecanismos que existen en nuestro organismo para retirar esos cuerpos son la degradación enzimática por parte de neprilisina e IDE (enzima degradante de insulina), en el tejido y las paredes arteriales, la absorción de $A\beta$ hacia la sangre a través de la BHE por medio del receptor LPR1, y por último, el drenaje linfático desde el líquido

cefalorraquídeo y las paredes de los capilares y las arterias en los nódulos linfáticos cervicales (Zekonyte et al., 2016), (Tarasoff-Conway et al., 2015).

Aunque el mecanismo de interacción entre ApoE y A β no está del todo claro, se ha llegado a la conclusión de que ApoE se une a A β y media la eliminación de sus agregados. Esta unión entre las dos proteínas se lleva a cabo de manera que forman un complejo. Sin embargo, depende de la isoforma en la que se presente ApoE, la unión entre ellas, y por tanto, su eliminación, será más o menos efectiva. Algunos autores afirman que ApoE3 tiene una mayor afinidad por los oligómeros de A β y las placas seniles que ApoE4, y por ello, la unión de las proteínas es más fuerte en el caso de ApoE3. Otros estudios postulan que es la forma ApoE4 la que tiene una mayor afinidad por A β , pero que esto se ve revertido cuando ApoE está unida a lípidos. Otros investigadores, sin embargo, no contemplan que A β sea capaz de unirse a ApoE4 para ser eliminada por LRP1. En algunos experimentos se demostró también que los complejos ApoE3-A β 42 eran saturables y dependientes de las concentraciones de A β (Van Cauwenberghe et al., 2016), (Zekonyte et al., 2016), (Tarasoff-Conway et al., 2015), (Nelson et al., 2017).

A pesar de los diferentes resultados obtenidos en los diferentes estudios, la hipótesis que parece más lógica en relación a las consecuencias, es la de la debilidad en la unión entre ApoE y A β . Por lo tanto, en aquellas personas que posean el alelo *APOE4*, menor cantidad de A β es eliminada del tejido, y esto da lugar a que se formen más placas seniles.

Esto se debe también a que los complejos de ApoE4-A β , al formar una unión más débil, también presentan menos afinidad por las proteínas de la membrana basal del sistema vascular en el cerebro, que se traduce en que este complejo estaría menos fijado a la membrana durante la expansión de la onda del pulso a través de los vasos y quedarían en el espacio extracelular, convirtiéndose al final en las placas seniles. La fuerza de la onda de pulso sería el impulso que inicia la eliminación de A β desde alrededor de los vasos sanguíneos. La proteína experimenta un movimiento a lo largo de la membrana basal en la dirección contraria a la del flujo sanguíneo, retirándose así del tejido cerebral. Para que este proceso se lleve a cabo correctamente, el complejo ApoE-A β

debe estar anclado a la membrana basal de los vasos, interaccionando con algunas proteínas de la membrana, por ejemplo, la laminina (Zekonyte et al., 2016).

Experimentos recientes sobre inmunoterapia para eliminar estas placas sugieren que el péptido A β que sale del parénquima cerebral de una persona con Alzheimer queda atrapado en las vías de drenaje, sin que se efectúe la completa eliminación (Zekonyte et al., 2016).

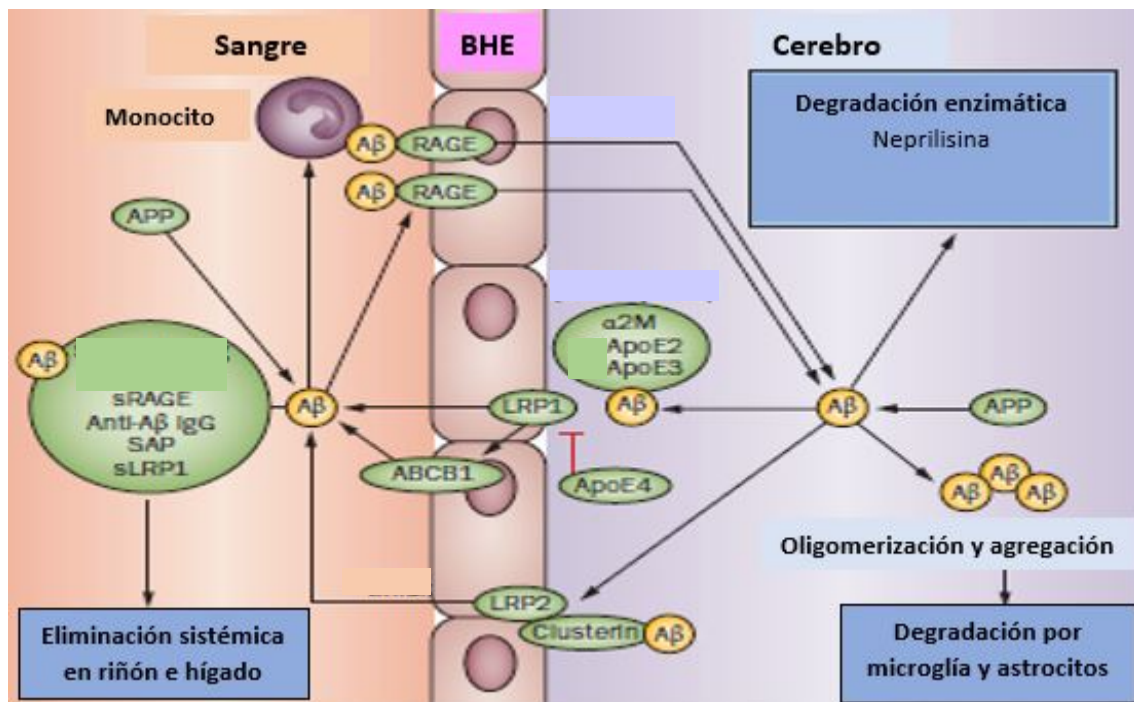


Imagen 7. Diferentes vías de eliminación de A β representadas en la sangre y el cerebro. Imagen modificada de *Tarasoff – Conway et. al, 2015*.

En cuanto a la degradación de A β por la neprilisina, este proceso se lleva a cabo gracias a que la microglía, que se une a A β a través de su receptor de reconocimiento de patrones (PPR), fagocita las fibras de A β . Estas fibras, que luego formarían las placas seniles disponiéndose en láminas, son muy resistentes a la degradación. Sin embargo, el péptido A β soluble puede ser eliminado más fácilmente por proteasas extracelulares. El fallo en cuanto a la eliminación por parte de la microglía consiste en que, en los portadores de *APOE4* se expresa una mayor cantidad de citoquinas, lo que lleva a una menor expresión de los receptores para la fagocitosis de A β . Además, los astrocitos adultos contribuyen a este proceso de eliminación aumentando la

producción de neprilisina entre otras proteasas para A β . Las funciones y la morfología de los astrocitos también sufren cambios durante la patología, lo que se traduce en una menor contribución a la eliminación de A β . Los astrocitos también llevan a cabo la lipidación de ApoE dependiente de astrocitos, por lo tanto cuando se atrofian y no son capaces de realizarla, ApoE presenta menor afinidad por A β (Barrera-Ocampo et al., 2016), (Holmes, 2017).

El transporte de A β a través de la BHE también es interesante, ya que incluye un factor que podría influir también en la acumulación de A β : el LRP1 (low density lipoprotein receptor-related lipoprotein 1), que se une al 70% - 90% de A β del plasma. A β se retira del espacio intersticial a través de la BHE hacia la sangre, y al revés. El péptido A β soluble se transfiere del espacio intersticial hacia el cerebro por mediación de LRP1 entre otros receptores de la familia LDLR (low density lipoprotein receptor). Se cree que la proteína ABCA1, que se localiza en la zona abluminal del endotelio cerebral, media en la eliminación del complejo ApoE-A β uniendo lípidos a ApoE, facilitando así la interacción entre las dos proteínas en el complejo y mejorando de esta manera la unión al LRP1 para el transporte (Tarasoff-Conway et al., 2015)

Los enfermos de Alzheimer expresan una menor cantidad de LRP1 y ABCB1, que transporta directamente A β a la sangre. También sufren ciertas modificaciones en LRP1, que lleva a tener menor afinidad por A β , facilitando así el transporte de A β hacia el espacio intersticial de nuevo. Por último, la neuroinflamación que sufren acidifica el pH haciendo que A β sufra cambios conformacionales que disminuyan la afinidad por los receptores (Tarasoff-Conway et al., 2015)

ApoE también es en sí mismo un ligando de LRP1 que compite con A β en el transporte del espacio intersticial hacia la circulación, siendo ApoE4 la isoforma que más dificulta el paso de A β hacia la sangre, impidiendo una vez más su eliminación (Tarasoff-Conway et al., 2015)

5.1.2 APOE4 e inflamación

Existe la hipótesis de que las isoformas de ApoE modulan la neuroinflamación de distintas formas, ya que muchas líneas experimentales han demostrado que se da una mayor respuesta inflamatoria en los portadores de ApoE4 con respecto a ApoE3,

produciéndose no solo mayor cantidad de citoquinas proinflamatorias, si no también menos antiinflamatorias. En macrófagos aislados de ratones *APOE4 knock-in*, la eferocitosis resultó ser menor que en los *APOE3 knock-in*, y la activación de la microglía, sobre todo alrededor de las placas, también estaba aumentada (Tai et al., 2015).

Pero el nivel de A β total acumulado en el cerebro representa el balance entre la cantidad de proteína producida y eliminada, por lo tanto, a parte de la incorrecta eliminación, hay que tener en cuenta que es posible que se dé una sobreproducción de A β en el cerebro de los enfermos de Alzheimer: se cree que ApoE4 también influye iniciando y acelerando la acumulación y agregación de A β . Se conoce que la proteína se acumula en las placas seniles junto con A β , esto se ha demostrado en modelos animales y experimentos in vitro. Según esta afirmación, los enfermos de Alzheimer que son portadores del alelo ϵ 4 poseen una mayor carga de placas seniles en el cerebro que aquellos que no lo tienen en su genoma, por influir en ambas vías de acumulación (Liu et al., 2017), (Zhao et al., 2018), (Takatori et al., 2019).

Sin embargo, otras publicaciones sugieren que ApoE2 confiere una protección frente a la posibilidad de padecerla, y se considera que ApoE3 tiene una posición neutral frente a ésta, ya que es la isoforma estándar en la población (Karch and Goate, 2015), (Lane-Donovan and Herz, 2017), (Van Cauwenberghe et al., 2016), (Takatori et al., 2019).

5.2 CLU

La clusterina (CLU), también conocida como apolipoproteína J, es una glicoproteína con múltiples funciones, expresada en el gen *CLU* del cromosoma 8, que también presenta polimorfismos que aumentan el riesgo para la enfermedad de Alzheimer esporádico. Su rol principal en el organismo es el de proteína chaperona, pero también forma parte del proceso de transporte de lípidos, la inmunorregulación, el estrés oxidativo y de las vías de muerte y supervivencia celular (Foster et al., 2019).

Su importancia en el estudio de la enfermedad se debe a que los niveles de esta proteína están aumentados en el cerebro de los enfermos, en el hipocampo, la corteza

cerebral y el líquido cefalorraquídeo. Además, niveles altos de CLU en plasma se han relacionado con hipertrofia del hipocampo severa y una peor progresión de la enfermedad (Foster et al., 2019).

La clusterina en el tejido cerebral es secretada por las células de la glía, sobre todo por los astrocitos. La proteína es capaz de unirse a A β y eliminarla a través de la BHE uniéndose a LRP2. Algunos estudios afirman que, gracias a su función de chaperona, la CLU extracelular se une a la superficie de A β evitando su oligomerización y agregación en placas. Por lo tanto, en condiciones fisiológicas, tendría efecto neuroprotector (Nelson et al., 2017), (Troakes et al., 2017), (Li et al., 2014).

Sin embargo, esto podía cambiar en el cerebro de los enfermos de Alzheimer. Este efecto neuroprotector es dependiente de la concentración de ambas proteínas, CLU y A β . Si la proporción CLU/A β tiene un valor alto, CLU actúa como en condiciones fisiológicas e inhibe la formación de placas, previniendo la agregación de A β y facilitando su eliminación a través de LRP2. Pero cuando el ratio es menor, es decir, hay más cantidad de A β que de CLU, CLU es citotóxica, induce estrés oxidativo, la formación de oligómeros de A β y la expresión de Dkk1 (Dickkopf-related protein 1), que inhibe la vía de señalización Wnt. La vía de señalización Wnt canónica reduce la toxicidad de A β y protege a las neuronas del hipocampo, y cuando ésta se ve bloqueada, la toxicidad de A β se ve aumentada, se favorece la fosforilación de Tau, la pérdida de sinapsis y la apoptosis inducida por A β (Li et al., 2014), (Vallée and Lecarpentier, 2016).

A parte de inhibir la vía canónica de Wnt, Dkk1 es capaz de activar la vía no canónica de señalización Wnt, la vía wnt-PCP, que lleva a la activación de las quinasas c-Jun terminal (JNK/c-Jun). Esta familia de proteínas es una de las tres familias que forman parte del grupo de proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAP quinasas), y es codificada por tres genes: *jnk1* (MAPK8), *jnk2* (MAPK9) y *jnk3* (MAPK10). JNK1 y JNK2 están ampliamente distribuidas por los tejidos, mientras que JNK3 se localiza principalmente en el cerebro (Killick et al., 2014), (Yarza et al., 2016).

JNK/c-Jun juegan un papel importante en las vías de señalización en respuesta al estrés implicadas en la expresión génica, entre otras funciones. Se ha demostrado que se

activan en respuesta a A β 42, induciendo neuroinflamación y neurodegeneración, y que su activación es responsable de la regulación de la señalización para la apoptosis. Estudios in vitro e in vivo afirman que existen alteraciones en la vía que desencadenan estas proteínas en individuos con Alzheimer (Yarza et al., 2016).

Dichas proteínas han sido observadas en altas concentraciones en estudios post-mortem de cerebros de individuos con Alzheimer. Sobre todo JNK3, en el tejido y el líquido cefalorraquídeo. Se ha descrito una relación lineal entre el nivel de degeneración cognitiva y la concentración de JNK3 (Yarza et al., 2016).

JNK3 incrementa la producción de A β , ya que induce la vía amiloidogénica. También participa en la maduración y desarrollo de los ovillos neurofibrilares, fosforilando directamente a Tau. Por último, se ha sugerido en varios estudios que la neurodegeneración en las primeras etapas de la patología podría deberse a una vulnerabilidad neuronal inducida por la activación de diferentes vías de apoptosis, como consecuencia de altos niveles de estrés oxidativo, y que todo ello podría estar mediado por JNK, ya que se ha demostrado que también es responsable de disminuir la síntesis del factor antiapoptótico Bcl-w (Yarza et al., 2016).

Existen polimorfismos de nucleótido único para *CLU* que, según un estudio realizado por Nelson et al., (2017) influyen en si la proteína representa una protección o un factor de riesgo para la enfermedad. Según este autor, la variante rs11136000C del gen se asocia con una menor expresión de la proteína y por lo tanto un mayor riesgo para el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer, y el alelo rs11136000T supone un incremento en su producción, que se traduce en un menor riesgo. Los individuos con la variante CC en esa región del gen mostraron más depósitos de A β que aquellos con el alelo TC, y los que poseían el alelo TT eran los que menos depósitos presentaban (Nelson et al., 2017).

5.3. *TREM2*

El siguiente factor de riesgo que se describe es el gen *TREM2* (triggering receptor expressed on myeloid cells 2), que posee algunas variantes que multiplican la posibilidad de padecer la enfermedad hasta tres veces. Este gen, situado en el

cromosoma 6, codifica un receptor, una proteína transmembrana, *TREM2*, que contiene un dominio extracelular de tipo V para anticuerpos, un dominio transmembrana, una región que conecta ambas y una cola citoplasmática. Es expresada en la microglía mayoritariamente (Ulrich et al., 2017), (Zhou et al., 2018).

El gen *TREM2* está localizado dentro del clúster de genes *TREM*, en el que se encuentran los genes *TREM1*, *TREM2*, *TREM4* y *TREM5*, a parte de los genes *TREM* – like *TREML1* y *TREML2* (Ulrich and Holtzman, 2016).

Experimentos con ratones *TREM2 knock-out* demostraron que *TREM2* es capaz de regular la homeostasis neuronal inhibiendo la producción de citoquinas e induciendo la fagocitosis de células apoptóticas (H. Xu et al., 2015).

5.3.1. Mutaciones de *TREM2*

La importancia de *TREM2* como factor de riesgo en la enfermedad de Alzheimer esporádico se descubrió a partir del estudio de otra patología, el síndrome de Nasu-Hakola (NHD). Las personas que padecen esta enfermedad suelen ser homocigotos para variaciones de *TREM2* que causan pérdida de función del gen, como la variante polimórfica Q33X. Gracias a siguientes investigaciones sobre este gen, se demostró que aquellos individuos heterocigotos para ciertas variantes de *TREM2* eran más propensos a desarrollar la enfermedad de Alzheimer (Ulrich and Holtzman, 2016), (Guerreiro et al., 2012).

Dichas mutaciones no son sólo de riesgo para la enfermedad de Alzheimer, si no que han sido relacionadas con varias enfermedades que cursan con neurodegeneración, como la demencia frontotemporal o el Parkinson. Es por eso mismo que el descubrimiento de este gen como factor de riesgo ha incitado a investigar más a fondo el rol que tiene la neuroinflamación en estas enfermedades (H. Xu et al., 2015).

La variante más común en la población del gen responsable de incrementar el riesgo de la enfermedad es rs75932628, un polimorfismo de nucleótido único que cambia la arginina por la histidina en la posición 47 (R47H). Este polimorfismo se traduce en una pérdida parcial de la función del receptor y en un aumento del riesgo de la enfermedad hasta cuatro veces. También se sospecha que haya una variante del gen que codifica *TREM1*, rs6910730G, que tiene relación con la enfermedad de Alzheimer.

Sin embargo, se cree que la variante S144G del gen *TREML2* podría representar una protección ante la posibilidad de desarrollar la patología (Ulrich et al., 2017), (Ulrich and Holtzman, 2016), (Zhou et al., 2018).

Curiosamente, las variantes mencionadas parecen ser de riesgo sólo en Europa, y dicha relación entre el gen y la enfermedad no han sido demostradas en la población china ni afroamericana (Gratuze et al., 2018).

Aunque existen desacuerdos entre investigadores, algunos estudios confirmaron que los individuos con la variante R47H presentaban una edad más temprana en cuanto a la aparición de síntomas y una degeneración de las funciones cognitivas más rápida (Gratuze et al., 2018).

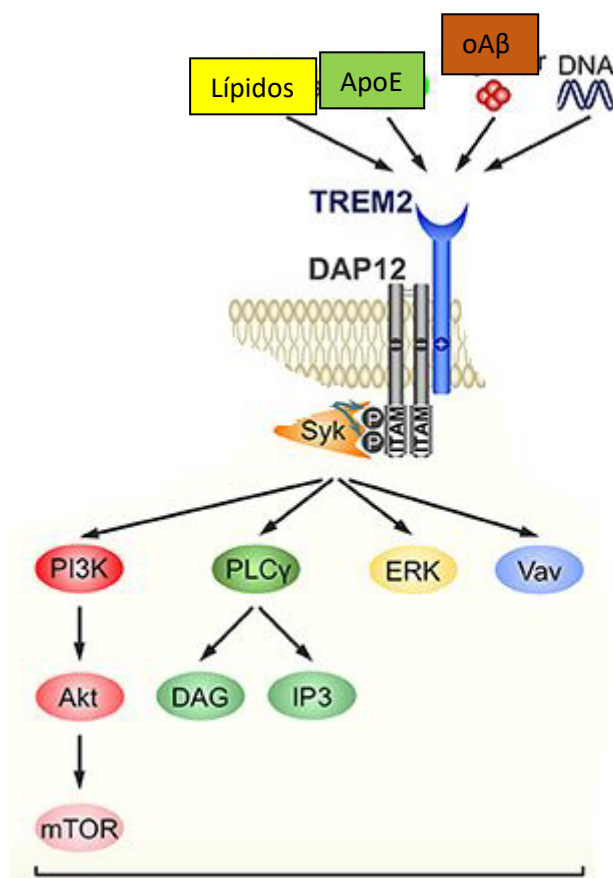
5.3.2. ApoE actúa como ligando de TREM2 induciendo la fagocitosis en la microglía: regulación de la neuroinflamación

TREM2 se une a moléculas polianiónicas, como lipopolisacáridos bacterianos, lipoproteínas y neuronas apoptóticas. Inicia una vía de señalización gracias a una proteína adaptadora, DAP12, que contiene ITAMs, sitios de acoplamiento para proteínas quinasas. Cuando se une un ligando al receptor, los ITAMs de DAP12 se fosforilan y reclutan SYK, proteínas tirosina quinasa, que inician la fosforilación, la activación de fosfoinositol-3 quinasa (PI3K) y de MAPK. El desencadenamiento de la cascada induce la supervivencia de la microglía, su proliferación y la reorganización del citoesqueleto, por la activación de la diana de rapamicina en células de mamífero (mTOR) (Zhou et al., 2018).

Algunos estudios (in vitro) mantienen la hipótesis de que TREM2 podría ser un receptor fagocítico que regula la eferocitosis o la fagocitosis de A β , ya que en experimentos en ratones *TREM2 knock-out*, la migración de la microglía hacia las neuronas apoptóticas se vio reducida frente a los ratones control (Zhou et al., 2018).

Sin embargo, la fosforilación parcial de ITAM puede desencadenar señales inhibitorias opuestas a las antes mencionadas, por lo que TREM2/DAP12 puede promover una respuesta inflamatoria o antiinflamatoria, según qué ligando se una, y con qué afinidad (Takatori et al., 2019).

TREM2 es capaz de unirse a los patrones moleculares asociados al daño o a los patógenos, a ácidos nucleicos que se liberan de las células muertas y a lípidos que quedan expuestos tras daño neuronal. Investigaciones recientes reconocen a ApoE como un nuevo ligando para TREM2, relacionando ambos factores de riesgo. Las tres isoformas parecen tener la misma afinidad por el receptor. La clusterina es capaz de unirse también a este receptor. Sin embargo existen desacuerdos en la comunidad científica sobre si el estado de lipidación de estas proteínas afecta a la afinidad que presentan por TREM2 (Ulrich et al., 2017), (H. Xu et al., 2015).



Supervivencia, proliferación, fagocitosis, motilidad

Imagen 8: Representación de TREM2, con sus posibles ligandos y las cascadas de señalización que desencadena. Imagen modificada de *Konishi and Kiyama, 2018*.

Un experimento en un cultivo celular de células animales llevado a cabo por Xu et al. (2015) postuló, tras la incubación de células N2a (células de neuroblastoma de

ratones) apoptóticas con ApoE (expresado en células HEK293), que ApoE se une a las células apoptóticas mucho más que a las células control en las que no se había inducido la muerte celular. En segundo lugar, se estudió cómo ApoE influía en la capacidad de fagocitosis de microglía de ratones, concluyendo que la unión de ApoE a las neuronas apoptóticas inducía la fagocitosis por la microglía (H. Xu et al., 2015).

Por último, se incubaron células apoptóticas N2a con microglía de ratones *TREM2 knock-out* para determinar si el incremento en la fagocitosis estaba mediado por TREM2. Efectivamente, la microglía proveniente de los ratones *TREM2-KO* presentaba una menor actividad fagocítica frente a las células apoptóticas, por lo que se afirma que existe un mecanismo mediado por TREM2 por el que ApoE induce la fagocitosis de dichas células (H. Xu et al., 2015).

En el mismo estudio se investigó si la mutación R47H para *TREM2*, descrita anteriormente, influía en la unión entre apoE y TREM2. Los resultados demostraron una notable reducción en cuanto a la unión de TREM2 con cualquiera de los tres fenotipos que existen para apoE (H. Xu et al., 2015)

Varios estudios han concluido que, eliminando de la microglía TREM2 o DAP12 por modificación genética en ratones, la secreción de citoquinas proinflamatorias, como IL-1 β , la 6 (IL-6) o TNF- α se ve aumentada cuando se incuban estas células con neuronas apoptóticas o A β . Sin embargo, si se sobre expresa TREM2 en la microglía, estos factores inflamatorios dejan sintetizarse en tan altas cantidades (H. Xu et al., 2015).

En diferentes experimentos se ha demostrado que la deficiencia de TREM2 resulta en una actividad reducida de la fagocitosis por parte de la microglía frente a neuronas apoptóticas y A β , in vivo e in vitro. Todas estas afirmaciones le conceden a TREM2, y por consecuencia a ApoE, un rol muy importante en el control de la fagocitosis y por lo tanto en la regulación de la neuroinflamación (H. Xu et al., 2015).

5.3.4. TREM2 y A β

Muy recientemente se ha descubierto que los oligómeros de A β son capaces de unirse directamente a TREM2, induciendo la activación de la microglía y el aumento de producción de citoquinas proinflamatorias (Konishi and Kiyama, 2018).

Estudios en ratones demuestran que aquellos ratones que presentaban una delección de *TREM2* tenían menor carga de A β a los dos meses de edad. No obstante, tras seis meses, presentaban una mayor acumulación de A β en la corteza cerebral. Estos datos sugieren el efecto de TREM2 sobre A β sería dependiente del estado de agregación de A β .

Además, la activación de la microglía en estos ratones carentes del gen era menor. Éstos mostraban menos células alrededor de las placas de A β . Por otro lado, la ausencia del gen contribuyó a que las placas seniles fueran menos compactas, a una proliferación de la microglía con graves defectos metabólicos, y a mayor nivel de distrofia neuronal. Este hecho también se observa en pacientes de Alzheimer con la mutación R47H para *TREM2*. La teoría que deriva de este hecho es que TREM2 sirva de apoyo para las células de la microglía en situaciones de estrés. En cuanto a situaciones de estrés prolongado, como supone la enfermedad de Alzheimer, la proteína TREM2 defectuosa expresada por la variante del gen podría ser la responsable de alterar las funciones de la microglía y su supervivencia, por una activación deficiente de mTOR (Gratuze et al., 2018), (Takatori et al., 2019).

5.4 *PICALM*

Recientemente, en 2009, un GWA en más de 16.000 individuos en Europa y los Estados Unidos determinó que el polimorfismo de nucleótido único rs3851179 del gen *PICALM* implicaba un mayor riesgo en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer (Harold et al., 2009).

Este gen, que se encuentra en el cromosoma 11, codifica la proteína Picalm (Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein), que es expresada en todos los tejidos, pero mayormente en el cerebro en neuronas, astrocitos y oligodendrocitos. Fue identificado por primera vez en estudios de leucemia mieloide y linfocitoide aguda (Baig et al., 2010).

Esta proteína está implicada en varios procesos como el crecimiento, la hematopoyesis o el metabolismo del hierro, pero la función que es relevante para la patología es la de la endocitosis (W. Xu et al., 2015)

PICALM es una proteína adaptadora que regula la endocitosis mediada por clatrina (CME), un proceso que está implicado, entre otros mecanismos, en la eliminación de células apoptóticas, distribución de receptores y el metabolismo de APP (W. Xu et al., 2015).

La endocitosis mediada por clatrina funciona de manera que, cuando se une un ligando a un receptor específico en la membrana celular, clatrina y la proteína adaptadora 2 (AP-2) se unen a la región C-terminal de PICALM en la región citoplasmática, mientras que la región N-terminal de PICALM se une a fosfatidilinositol bifosfato (PIP2), localizado en la membrana. La unión de estas proteínas conduce a la formación de una capa de recubrimiento de clatrina y a la deformación de la membrana para dar lugar a una invaginación. Después, las vesículas recubiertas de clatrina (CCV) se separan de la membrana plasmática y viajan por el plasma celular hasta que la cubierta de clatrina se desintegra, requisito para que las vesículas se fusionen con otras membranas. La cubierta vuelve a la membrana celular para ser reciclada. Este proceso es de utilidad para el transporte intracelular de macromoléculas, que facilitan la rápida comunicación entre neuronas (W. Xu et al., 2015).

Se cree que la regulación de este proceso por parte de PICALM podría controlar la cantidad de A β que se sintetiza, ya que antes de que se lleve a cabo el procesamiento de APP, ésta debe ser internalizada en la célula mediante endocitosis. La APP que queda dentro de la célula en las vesículas recubiertas es transportada a los endosomas, donde finalmente es procesada.

Además, la alteración en los niveles de PICALM suponen cambios en este proceso, que puede verse bloqueado por sobreexpresión de PICALM o por su degradación por parte de calpaínas o caspasas, proteasas que ven aumentadas sus concentraciones durante la enfermedad de Alzheimer (Baig et al., 2010).

Otro posible mecanismo por el que la eliminación de A β se vería reducida es el de la eliminación a través de la BHE. PICALM ha sido identificado también en el endotelio de los capilares sanguíneos del cerebro, se cree que para regular los receptores que se encuentran en ellos, como LRP1. Es posible que interfiera en el proceso de aclaramiento de A β interfiriendo con este receptor, ya que la reducción de los niveles

de esta proteína en el cerebro de los individuos enfermos de Alzheimer está relacionada directamente con el deterioro cognitivo, alteraciones neuronales, y la disminución de la eliminación de A β (Baig et al., 2010), (Zhao et al., 2015).

No obstante, hay que tener en cuenta también que múltiples consecuencias de la enfermedad de Alzheimer, como flujo capilar turbulento, estrés oxidativo, hipoxia o la inflamación pueden afectar a la expresión de proteínas en el endotelio, lo que explicaría la reducción de los niveles de PICALM (Zhao et al., 2015).

En ratones, se ha demostrado que la supresión de la función del gen PICALM resulta en una acumulación acelerada de A β (Zhao et al., 2015).

6. Conclusiones

1. A pesar de todas las investigaciones que intentan esclarecer las causas de la enfermedad de Alzheimer esporádico, aún no se conoce una clara etiología. Existen factores de riesgo modificables para la enfermedad, y la identificación de grupos de riesgo a una edad temprana, permitiría incidir en un cambio de estilo de vida, probablemente evitando así muchos nuevos casos de la patología. Esto le supondría al estado un gran ahorro socioeconómico.

2. A parte de las placas seniles y los ovillos neurofibrilares, en lo que muchos años se han centrado los investigadores, la neuroinflamación ha tomado un papel muy importante en el estudio de la enfermedad y su regulación supone una posible nueva diana terapéutica.

3. Los principales genes de riesgo para la enfermedad son *APOE*, *CLU*, *TREM2* y *PICALM*, entre otros. Poseer el alelo *APOE4* se asocia a un menor aclaramiento de A β y una mayor formación de placas, aparte de contribuir a la neuroinflamación. Por otro lado, la mutación de rs11136000C de *CLU* induce la fosforilación de Tau y aumenta la toxicidad de A β y la inflamación.

4. La variante R47H en *TREM2* también disminuye la fagocitosis de A β mediada por ApoE e induce la inflamación uniéndose a A β , y el polimorfismo rs3851179 de *PICALM* aumenta la carga de A β interfiriendo en su producción y eliminación.

5. No se conocen terapias ni profilaxis que ayuden a modificar el curso de esta enfermedad. La mayoría de ensayos clínicos realizados durante los últimos años no superaron la fase III. Por ello existe una gran necesidad de seguir investigando los mecanismos patológicos para buscar nuevas dianas terapéuticas.

7. Bibliografía

2015 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement* 2015;11:332–84.

ADI. Informe mundial sobre el Alzheimer 2018 La investigación de vanguardia sobre la demencia : Nuevas fronteras 2018.

Alzheimer's Association. 2019 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement* 2019;15:321–87.

Baig S, Joseph SA, Tayler H, Abraham R, Owen MJ, Williams J, et al. Distribution and expression of picalm in alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 2010;69:1071–7.

Barrera-Ocampo A, Lopera F. Amyloid-beta immunotherapy: the hope for Alzheimer disease? vol. 47. 2016.

Van Cauwenberghe C, Van Broeckhoven C, Sleegers K. The genetic landscape of Alzheimer disease: clinical implications and perspectives. *Genet Med* 2016;18:421–30.

Ea DA. La enfermedad de Alzheimer en el año 2000. *Rev Panam Salud Pública* 2007;10:268–76.

Van Eldik LJ, Carrillo MC, Cole PE, Feuerbach D, Greenberg BD, Hendrix JA, et al. The roles of inflammation and immune mechanisms in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement Transl Res Clin Interv* 2016;2:99–109.

Fernández MV, Cruchaga C. Genética de la enfermedad de Alzheimer: presente y futuro. *Genética Médica News* 2016;3:22–7.

Foster EM, Dangla-Valls A, Lovestone S, Ribe EM, Buckley NJ. Clusterin in Alzheimer's Disease: Mechanisms, Genetics, and Lessons From Other Pathologies. *Front Neurosci* 2019;13:1–27.

- Garre-Olmo. Epidemiologia demencias. Rev Neurol 2018;66:377–86.
- Gratuze M, Leyns CEG, Holtzman DM. New insights into the role of TREM2 in Alzheimer's disease. Mol Neurodegener 2018;13:1–16.
- Guerreiro R, Wojtas A, Bras J, Carrasquillo M, Rogaeva E, Majounie E, et al. TREM2 Variants in Alzheimer's Disease . N Engl J Med 2012;368:117–27.
- Guo T, Noble W, Hanger DP. Roles of tau protein in health and disease. Acta Neuropathol 2017;133:665–704.
- Harold D, Abraham R, Hollingworth P, Sims R, Gerrish A, Hamshere ML, et al. Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease. Nat Genet 2009;41:1088–93.
- Heppner FL, Ransohoff RM, Becher B. Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. Nat Rev Neurosci 2015;16:358–72.
- Holmes C. Inflammation in Alzheimer's disease. Dementia, Fifth Ed 2017;14:508–18.
- Huebbe P, Rimbach G. Evolution of human apolipoprotein E (APOE) isoforms: Gene structure, protein function and interaction with dietary factors. Ageing Res Rev 2017;37:146–61.
- Karch CM, Goate AM. Alzheimer's Disease Risk Genes and Mechanisms of Disease Pathogenesis. Biol Psychiatry 2015;77:43–51.
- Keren-Shaul H, Spinrad A, Weiner A, Matcovitch-Natan O, Dvir-Szternfeld R, Ulland TK, et al. A Unique Microglia Type Associated with Restricting Development of Alzheimer's Disease. Cell 2017;169:1276-1290.e17.
- Khan SS, Bloom GS. Tau: The Center of a Signaling Nexus in Alzheimer's Disease. Front Neurosci 2016;10:1–5.
- Killick R, Ribe EM, Al-Shawi R, Malik B, Hooper C, Fernandes C, et al. Clusterin regulates β -amyloid toxicity via Dickkopf-1-driven induction of the wnt–PCP–JNK pathway. Mol Psychiatry 2014;19:88–98.
- Kojro E, Fahrenholz F. The Non-Amyloidogenic Pathway: Structure and Function of α -

Secretases. *Alzheimer's Dis* 2006;105–27.

Konishi H, Kiyama H. Microglial TREM2/DAP12 Signaling: A Double-Edged Sword in Neural Diseases. *Front Cell Neurosci* 2018;12:1–14.

Lane-Donovan C, Herz J. ApoE, ApoE Receptors, and the Synapse in Alzheimer's Disease. *Trends Endocrinol Metab* 2017;28:273–84.

Li X, Ma Y, Wei X, Li Y, Wu H, Zhuang J, et al. Clusterin in Alzheimer's disease: a player in the biological behavior of amyloid-beta. *Neurosci Bull* 2014;30:162–8.

Liu CC, Zhao N, Fu Y, Wang N, Linares C, Tsai CW, et al. ApoE4 Accelerates Early Seeding of Amyloid Pathology. *Neuron* 2017;96:1024-1032.e3.

López-Álvarez J, Agüera-Ortiz LF. Evolución histórica Nuevos criterios diagnósticos de la demencia y la enfermedad de Alzheimer: una visión desde la psicogeriatría. vol. 5. 2015.

Mahley RW. Central Nervous System Lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2016;36:1305–15.

Masters CL, Bateman R, Blennow K, Rowe CC, Sperling RA, Cummings JL. Alzheimer's disease. *Nat Rev Dis Prim* 2015;1:15056.

Montgomery W, Ueda K, Jorgensen M, Stathis S, Cheng Y, Nakamura T. Epidemiology, associated burden, and current clinical practice for the diagnosis and management of Alzheimer's disease in Japan. *Clinicoecon Outcomes Res* 2018;10:13–28.

Mucke L, Selkoe DJ. Neurotoxicity of amyloid β -protein: synaptic and network dysfunction. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2:a006338.

Navarro V, Sanchez-Mejias E, Jimenez S, Muñoz-Castro C, Sanchez-Varo R, Davila JC, et al. Microglia in Alzheimer's disease: Activated, dysfunctional or degenerative. *Front Aging Neurosci* 2018;10:1–8.

Nelson AR, Sagare AP, Zlokovic B V. Role of clusterin in the brain vascular clearance of amyloid- β . *Proc Natl Acad Sci* 2017;114:8681–2.

Niu H, Álvarez-Álvarez I, Guillén-Grima F, Aguinaga-Ontoso I. Prevalence and incidence

of Alzheimer's disease in Europe: A meta-analysis. *Neurol* (English Ed 2017;32:523–32.

Orta-Salazar E, Feria-Velasco AI, Díaz-Cintra S. Model Primary motor cortex alterations in Alzheimer disease: a study in the 3xTg-AD model. *Neurol* (English Ed 2019.

Prince M, Comas-Herrera A, Knapp M, Guerchet M, Karagiannidou M. World Alzheimer Report 2016 Improving healthcare for people living with dementia coverage, Quality and costs now and In the future. 2016.

Rigby T, Johnson DK, Galvin JE. DIFFERENCES IN CAREGIVER GRIEF AND BURDEN AMONG DEMENTIA WITH LEWY BODIES, DEMENTIA OF THE ALZHEIMER'S TYPE, AND DEMENTIA ASSOCIATED WITH PARKINSON'S DISEASE. *Alzheimer's Dement* 2018;14:P1322–3.

Ritchie K, Carrière I, Su L, O'Brien JT, Lovestone S, Wells K, et al. The midlife cognitive profiles of adults at high risk of late-onset Alzheimer's disease: The PREVENT study. *Alzheimer's Dement* 2017;13:1089–97.

Sandra Johanna GP, Marcela CM, Jessica Andrea TL, Karen Daniela R. Características cognitivas y oculares en enfermedad de Alzheimer. 2018.

Shen L, Jia J. An Overview of Genome-Wide Association Studies in Alzheimer's Disease. *Neurosci Bull* 2016;32:183–90.

Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011;7:280–92.

Tai LM, Ghura S, Koster KP, Liakaite V, Maienschein-Cline M, Kanabar P, et al. APOE-modulated A β -induced neuroinflammation in Alzheimer's disease: Current landscape, novel data, and future perspective. *J Neurochem* 2015;133:465–88.

Takatori S, Wang W, Iguchi A, Tomita T. Genetic Risk Factors for Alzheimer Disease: Emerging Roles of Microglia in Disease Pathomechanisms, 2019, p. 83–116.

Tarasoff-Conway JM, Carare RO, Osorio RS, Glodzik L, Butler T, Fieremans E, et al. Clearance systems in the brain - Implications for Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*

2015;11:457–70.

Troakes C, Smyth R, Noor F, Maekawa S, Killick R, King A, et al. Clusterin expression is upregulated following acute head injury and localizes to astrocytes in old head injury. *Neuropathology* 2017;37:12–24.

Ulrich JD, Holtzman DM. TREM2 Function in Alzheimer's Disease and Neurodegeneration. *ACS Chem Neurosci* 2016;7:420–7.

Ulrich JD, Ulland TK, Colonna M, Holtzman DM. Elucidating the Role of TREM2 in Alzheimer's Disease. *Neuron* 2017;94:237–48.

Vallée A, Lecarpentier Y. Alzheimer Disease: Crosstalk between the Canonical Wnt/Beta-Catenin Pathway and PPARs Alpha and Gamma. *Front Neurosci* 2016;10:459.

Wang Y, Mandelkow E. Tau in physiology and pathology. *Nat Rev Neurosci* 2016;17:5–21.

WHO. WHO | Dementia: a public health priority. WHO 2018.

Xu H, Bu G, Atagi Y, Painter MM, Zheng H, Fryer JD, et al. Apolipoprotein E Is a Ligand for Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2 (TREM2). *J Biol Chem* 2015;290:26043–50.

Xu W, Tan L, Yu JT. The Role of PICALM in Alzheimer's Disease. *Mol Neurobiol* 2015;52:399–413.

Yarza R, Vela S, Solas M, Ramirez MJ. c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling as a therapeutic target for Alzheimer's disease. *Front Pharmacol* 2016;6:1–12.

Zekonyte J, Sakai K, Nicoll JAR, Weller RO, Carare RO. Quantification of molecular interactions between ApoE, amyloid-beta (A β) and laminin: Relevance to accumulation of A β in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* 2016;1862:1047–53.

Zhao N, Liu C-C, Qiao W, Bu G. Apolipoprotein E, Receptors, and Modulation of Alzheimer's Disease. *Biol Psychiatry* 2018;83:347–57.

Zhao Z, Sagare AP, Ma Q, Halliday MR, Kong P, Kisler K, et al. Central role for PICALM in

amyloid- β blood-brain barrier transcytosis and clearance. *Nat Neurosci* 2015;18:978–87.

Zhou Y, Ulland TK, Colonna M. TREM2-dependent effects on microglia in Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci* 2018;10:1–7.